氟化物对家蚕耐氟和氟化物敏感品种幼虫中肠羧酸酯酶及全酯酶活性的影响

米　智，阮成龙，李姣蓉，付巧娟，武婧洁，SENDEGEYA Parfait，朱　勇*
（西南大学生物技术学院，重庆 400716）

摘要：为了探讨氟化物在家蚕 *Bombyx mori* 体内的代谢途径，以家蚕耐氟品种 T6 和氟化物敏感品种 734 为研究材料，在 5 龄幼虫 1 - 7 d 内分别添食经 50，100，200 和 400 mg/kg NaF 溶液浸泡后的新鲜桑叶，检测家蚕中肠羧酸酯酶(CarE)和全酯酶活性的变化。结果表明：734 添氟组的 CarE 活性是对照组的 1.21 ~ 1.98 倍，而 T6 添氟组约是对照组的 0.72 ~ 1.10 倍。734 和 T6 添氟组的全酯酶活性数值变化规律与其各自对照组相似，且 2 品种之间的酶活性数值很相近。2 品种在相同浓度下，不同天数之间的全酯酶活性差异均显著($P<0.05$)。推测氟化物对敏感家蚕中肠 CarE 有促进作用，对耐氟家蚕中肠 CarE 有抑制作用，但是对全酯酶活性影响不大。

关键词：家蚕；氟化物；中肠；羧酸酯酶；全酯酶；酶活性
中图分类号：Q966　　**文献标识码**：A　　**文章编号**：0454-6296(2013)05-0494-05

Influence of fluoride on activities of carboxylesterases and esterases in the larval midgut of the fluoride-resistant and susceptible strains of *Bombyx mori*

MI Zhi, RUAN Cheng-Long, LI Jiao-Rong, FU Qiao-Juan, WU Jing-Jie, SENDEGEYA Parfait, ZHU Yong* (College of Biotechnology, Southwest University, Chongqing 400716, China)

Abstract: To explore the metabolic pathway of NaF in the silkworm, *Bombyx mori*, the 5th instar larvae of the fluoride-resistant silkworm strain (T6) and the fluoride-susceptible strain (734) were fed on mulberry leaves soaked in 50, 100, 200 and 400 mg/kg NaF solutions, respectively, for 1 - 7 d, and the activities of carboxylesterases (CarE) and esterases in the midgut were examined. The results showed that the CarE activity in strain 734 was 1.21 - 1.98-fold as high as that in the control group, while the CarE activity in strain T6 was 0.72 - 1.10-fold as high as that in the control group. In both strains treated with NaF, the change trend of the esterase activity was similar with the control group within 7 d, and the esterase activity in the two strains was also similar. When the two silkworm strains were treated by NaF at the same concentration, their esterase activities on different days after treatment were significantly different ($P<0.05$). It is inferred that fluoride can increase the CarE activity in the midgut of the fluoride-susceptible strain of the silkworm, and inhibit the CarE activity in the midgut of the fluoride-resistant strain, but it has little effect on the esterase activity in the midgut of both strains of the silkworm.

Key words: *Bombyx mori*; fluoride; midgut; carboxylesterase; esterase; enzyme activity

近年来随着工农业的发展,陶瓷、砖瓦、磷肥、炼铝、水泥、玻璃、火力发电等部门排放的废气中含有大量氟化物，给蚕桑生产带来较大的危害。氟化物是一类原生质毒剂，研究表明，氟化物随桑叶进入蚕体累积于消化液、肠壁和体壁等处，通过消化管进入血液，在血液和组织中与蛋白质结合，抑制生长发育，出现氟中毒症状(黄君霆等，1996)。氟中毒能损害中枢神经系统，内分泌系统及心、肝、肾等，并引起生物酶学改变和免疫功能改变(张平，2009)。

酯酶是昆虫体内一种重要的代谢酶，属于水解酶，具有广泛的底物专一性。一方面杀虫剂对酯酶

基金项目：重庆市重大攻关项目(CSTC，2009AA1024)
作者简介：米智，男，1985 年生，山西阳高人，博士研究生，主要从事家蚕遗传育种方向研究，E-mail：mizhi775@126.com
* 通讯作者 Corresponding author，E-mail：zhuy@swu.edu.cn
收稿日期 Received：2012-11-23；接受日期 Accepted：2013-04-10

活性有抑制作用，另一方面酯酶可对某些杀虫剂进行代谢（Ownsu *et al.*，1996a，1996b）。羧酸酯酶（carboxylesterases，CarE，EC3.1.1）是一类解毒水解酶。能够与进入昆虫体内的有机磷杀虫剂快速结合，将杀虫剂在到达靶标作用位点之前阻隔或降解，降低杀虫剂对昆虫的毒害，使昆虫产生抗性（Karunaratne *et al.*，1993；Gopalan *et al.*，1997）。CarE 能够催化酯类和酰胺类化合物水解，在神经递质的传递过程中起重要作用（Li *et al.*，2007）。在抗性昆虫中，CarE 活性的提高主要是由基因扩增使得表达量的增加（量变）或催化效率提高（质变）所引起的（Vanghan and Hemingway，1995；Vanghan *et al.*，1997；Hemingway，2000；黄菁和乔传令，2002）。目前主要通过单个基因的克隆、表达和突变分析等，来研究基因在抗性形成中的作用（Zhang *et al.*，2010；Khajuria *et al.*，2011；Yu *et al.*，2011；Karatolos *et al.*，2012）。

本实验通过研究家蚕 *Bombyx mori* 添食 NaF 后中肠 CarE 及全酯酶（esterases）的活性变化，探讨其与家蚕耐氟性之间的关系，为从生理生化水平上阐明家蚕对氟化物的代谢机制提供参考。

1　材料与方法

1.1　试虫处理及取样

家蚕耐氟品种 T6、敏感品种 734，由中国农业科学院蚕业研究所提供，西南大学生物技术学院家蚕遗传育种室保存。按照常规方法饲养到 5 龄起蚕时，对照组喂食清水浸泡 11 min 后自然晾干的新鲜桑叶，试验组分别用 50，100，200 和 400 mg/kg NaF 溶液浸泡 11 min 后自然晾干的桑叶饲养（黄玲莉等，2005），每隔 8 h 添食 1 次，每天添食 3 次。试验采用平行设计，每组设 3 个重复。从 5 龄起蚕第 1－7 天每天分别取各组幼虫的中肠样品。

1.2　家蚕中肠酶液的制备

随机取家蚕 5 龄幼虫置于冰盘上取出中肠，去掉内容物后在 1.15% 的 KCl 溶液中漂洗干净桑叶残渣，用吸水纸吸干，每 10 条中肠加入 5 mL 0.04 mol/L pH 7.0 磷酸缓冲液进行匀浆，在 4℃ 下 10 000 g离心 15 min，取上清液稀释 50 倍后作为酶液，放置于 －70℃冰箱内备用。

1.3　家蚕血液羧酸酯酶活性测定

参照 Van Asperen（1962）的方法适当修改后进行，每个样品重复测定 3 次。2 500 μL 3×10^{-4} mol/L 的 α-醋酸萘酯溶液（含 1×10^{-4} mol/L 毒扁豆碱）和 500 μL 工作酶液（20 μL 酶液和 480 μL 0.04 mol/L pH 7.0 PBS）混合，在 30℃水浴中反应 30 min 后，加入 500 μL 显色剂后，摇匀，静置 15 min，待溶液变成稳定的蓝色后，用分光光度计在 600 nm 处测 OD 值。根据 30 min 内生成的 α-醋酸萘酚的毫摩尔数表示酶的活性（单位：μmol/mL α-萘酚）。

1.4　家蚕血液全酯酶活性测定

同羧酸酯酶测定方法基本一样，只是在 α-醋酸萘酯溶液中不加毒扁豆碱溶液。

1.5　数据统计与分析

试验数据使用 Excel 软件对 CarE 和全酯酶活性做柱状图分析；运用 SPSS17.0 软件对 CarE 和全酯酶的活性采用 Duncan 方法进行多重比较。

2　结果与分析

2.1　氟化物对家蚕中肠 CarE 活性的影响

从表 1 可以看到：氟化物敏感品种 734 对照组中肠 CarE 活性数值前 3 d 呈下降趋势，后 4 d 酶活性上下波动，且第 4 天的活性最高；50 mg/kg NaF 处理组的酶活性数值前 4 d 在 0.1～0.2 μmol/mL 范围内波动，第 5 天最低，第 6 天最高，达 0.8 μmol/mL，且远高于其他处理组；100 mg/kg NaF 处理组在第 1 天的酶活性高于其他处理组，第 3 天酶活性最低，最后 3 d 酶活性呈上升趋势；200 mg/kg NaF 处理组的酶活性前 4 d 呈上升的趋势，后 3 d 酶活性数值上下波动，在第 6 天酶活性最大；400 mg/kg NaF 处理组的酶活性变化趋势同 200 mg/kg NaF 处理组的酶活性，但数值不同。添氟组在 2－3 d 的 CarE 活性高于对照组，之后各处理组数值上下波动。耐氟品种 T6 对照组中肠 CarE 活性，在前 3 d 呈下降趋势，之后数值上下波动，第 4 和 6 天的酶活性高于添氟组，而第 5 天低于添氟组；50 mg/kg NaF 处理组的活性数值上下波动，第 3 天的酶活性显著高于其他处理组；100 mg/kg NaF 处理组前 5 d 的酶活性在 0.1 μmol/mL 上下波动，第 6 天呈现最大值；200 和 400 mg/kg NaF 处理组酶活性变化规律基本同 100 mg/kg NaF 处理组，只是数值变化幅度小于 100 mg/kg NaF 处理组。在分析 CarE 活性差异时，0 mg/kg NaF 处理后，2 品种前 4 d 差异均不显著；50 mg/kg NaF 处理后，2 品种第 1 和 5 天差异不显著；100 mg/kg NaF 处理后，2 品种仅第

4 天差异不显著；200 mg/kg NaF 处理后，2 品种仅第 7 天差异不显著；400 mg/kg NaF 处理后，2 品种第 1 和 2 天差异不显著，其余时间均显著(P < 0.05)。各品种不同浓度下，不同天数之间的差异显著性详见表 1。

2.2 氟化物对家蚕中肠全酯酶活性的影响

从表 2 可见，氟化物敏感品种 734 各处理组中肠全酯酶活性，在整个试验期数值变化规律基本一致，且活性也很相近。各处理组(200 mg/kg NaF 除外)全酯酶活性在前 3 d 时略呈下降趋势，而 200 mg/kg NaF 处理组数值呈先降后升的变化规律，后 4 d 对照组、100 和 200 mg/kg NaF 处理组的酶活性呈下降趋势，在第 7 天的酶活性达最低，50 和 400 mg/kg NaF 数值则呈微微上升后下降的规律；耐氟品种 T6 对照组中肠全酯酶活性在 1 – 2 d 呈下降趋势，添氟处理组呈上升趋势，2 – 3 d 各处理组的酶活性数值较接近，在第 4 天时，对照组和两个低浓度 NaF 处理组酶活性数值分别为整个试验期最高值，而两个高浓度 NaF 处理组的酶活性下降，在 5 – 6 d 时各处理组的酶活性数值较接近，之后呈下降趋势。整体上 T6 各处理组(2 个高浓度添氟组除外)的中肠全酯酶活性数值变化规律比较一致，且酶活性数值也很相近。通过表中数据的比较，不管是敏感品种 734 还是耐氟品种 T6 的全酯酶活性，在整个试验期，酶活性数值较接近。可以推断，不同浓度 NaF 在整个 5 龄期对家蚕全酯酶活性影响不大。在分析全酯酶活性差异时，相同浓度下，2 品种间在 7 d 内的差异均显著，同品种在 7 d 内大部分时间的差异显著(P < 0.05)，详见表 2。

表 1 734 和 T6 5 龄幼虫添食 NaF 后中肠 CarE 活性(μmol/mL)的变化

Table 1 Variation of the CarE activity (μmol/mL) in the midgut of the 5th instar larvae of *Bombyx mori* strains 734 and T6 after treatment with NaF

NaF 质量浓度 NaF concentration (mg/kg)	品种 Strain	处理后天数 Days after treatment						
		1	2	3	4	5	6	7
0	734	0.13 ± 0.02 aD	0.07 ± 0.02 aE	0.02 ± 0.01 aF	0.24 ± 0.02 aA	0.11 ± 0.02 aD	0.21 ± 0.02 bB	0.16 ± 0.02 aC
	T6	0.16 ± 0.04 aC	0.07 ± 0.02 aE	0.03 ± 0.02 aF	0.23 ± 0.02 aB	0.03 ± 0.02 bF	0.51 ± 0.02 aA	0.12 ± 0.02 bD
50	734	0.11 ± 0.02 aD	0.22 ± 0.02 aB	0.18 ± 0.02 bC	0.20 ± 0.02 aBC	0.07 ± 0.02 aE	0.81 ± 0.02 aA	0.21 ± 0.02 aB
	T6	0.11 ± 0.02 aD	0.04 ± 0.02 bF	0.31 ± 0.02 aB	0.18 ± 0.02 bC	0.07 ± 0.02 aE	0.38 ± 0.02 bA	0.18 ± 0.02 bC
100	734	0.20 ± 0.02 aAB	0.19 ± 0.02 aAB	0.04 ± 0.02 bD	0.18 ± 0.02 aB	0.11 ± 0.02 bC	0.20 ± 0.02 bAB	0.22 ± 0.02 aA
	T6	0.16 ± 0.02 bBC	0.08 ± 0.02 bD	0.06 ± 0.02 aDE	0.17 ± 0.02 aB	0.14 ± 0.02 aC	0.39 ± 0.02 aA	0.05 ± 0.02 bE
200	734	0.05 ± 0.02 bE	0.19 ± 0.02 aC	0.21 ± 0.02 aBC	0.23 ± 0.02 aB	0.12 ± 0.02 aD	0.44 ± 0.04 aA	0.08 ± 0.02 aDE
	T6	0.14 ± 0.02 aB	0.11 ± 0.02 bC	0.07 ± 0.02 bD	0.14 ± 0.02 bB	0.08 ± 0.02 bCD	0.21 ± 0.02 bA	0.08 ± 0.02 aCD
400	734	0.15 ± 0.02 aF	0.18 ± 0.01 aE	0.24 ± 0.02 aD	0.29 ± 0.02 aB	0.27 ± 0.02 aC	0.54 ± 0.02 aA	0.19 ± 0.02 aE
	T6	0.17 ± 0.02 aB	0.16 ± 0.02 aBC	0.04 ± 0.02 bE	0.08 ± 0.02 bD	0.08 ± 0.02 bD	0.20 ± 0.02 bA	0.14 ± 0.02 bC

图中数据为平均值 ± 标准差(n = 10)；表中同列不同小写字母表示同浓度处理后同天不同品种间比较差异显著(P < 0.05)，同行大写字母表示同品种不同天数间比较差异显著(P < 0.05)。表 2 同。Data in the table are represented as mean ± *SD* (n = 10). The different lowercase letters within a column represent significant difference between different strains treated by NaF at the same concentration for the same treatment duration (P < 0.05), while the different capital letters within a row represent significant difference between different days after treatment for the same strain (P < 0.05). The same for Table 2.

3 讨论

目前在多种昆虫中发现 CarE 活力与拟除虫菊酯和有机磷的抗性成正相关，分子生物学研究已经证实，酯酶活性的升高是由于酯酶结构基因的扩增(翟启慧，1995)。而本实验对不同家蚕品系添食 NaF，检测其中肠 CarE 活性，氟化物敏感品种 734 添氟组是对照组的 1.21 ~ 1.98 倍，而耐氟品种 T6 添氟组是对照组的 0.72 ~ 1.10 倍，与前人的研究

表 2　734 和 T6 5 龄幼虫添食 NaF 后中肠全酯酶活性(μmol/mL)的变化

Table 2　Variation of the esterase activity (μmol/mL) in the midgut of the 5th instar larvae of *Bombyx mori* strains 734 and T6 after treatment with NaF

NaF 质量浓度 NaF concentration (mg/kg)	品种 Strain	处理后天数 Days after treatment						
		1	2	3	4	5	6	7
0	734	52.95 ±4.20 aB	51.95 ±1.79 aC	51.48 ±1.79 aD	56.00 ±3.10 aA	42.92 ±4.73 aE	41.21 ±3.90 aF	35.42 ±4.73 bG
	T6	52.65 ±7.52 bB	49.60 ±1.79 bD	50.38 ±3.10 bC	55.84 ±6.30 bA	40.61 ±1.79 bF	40.99 ±3.10 bE	36.93 ±5.20 aG
50	734	55.62 ±3.10 aA	51.68 ±3.10 aC	51.48 ±1.79 aD	55.01 ±6.47 aB	40.67 ±1.79 aF	41.15 ±5.37 aE	31.41 ±6.47 bG
	T6	46.49 ±1.79 bD	49.52 ±1.79 bC	50.18 ±1.79 bB	54.48 ±3.58 bA	40.66 ±3.58 aF	41.07 ±1.79 bE	35.12 ±3.58 aG
100	734	52.18 ±3.10 aB	51.65 ±3.10 aC	51.32 ±1.79 aD	54.97 ±3.10 aA	40.99 ±3.10 aE	40.86 ±1.79 bF	30.69 ±1.79 bG
	T6	50.20 ±3.50 bC	50.88 ±4.34 bB	50.91 ±3.10 bB	52.60 ±4.73 bA	40.31 ±5.23 bE	40.99 ±4.23 aD	33.19 ±5.80 aF
200	734	55.31 ±1.12 aA	52.17 ±1.79 aC	51.52 ±1.25 aD	54.58 ±6.45 aB	40.85 ±1.79 aE	40.72 ±4.73 bE	37.60 ±3.58 aF
	T6	47.56 ±3.09 bC	50.29 ±3.10 bB	50.78 ±3.10 bA	46.35 ±3.10 bD	40.71 ±4.23 bF	41.33 ±4.24 aE	31.96 ±3.58 bG
400	734	54.89 ±6.47 aA	51.47 ±7.82 aC	51.28 ±6.20 aD	53.31 ±6.96 aB	40.53 ±6.20 bF	41.15 ±3.10 aE	33.87 ±5.93 aG
	T6	48.67 ±1.79 bC	51.17 ±1.79 bA	50.56 ±1.79 bB	46.55 ±6.45 bD	40.68 ±3.10 aF	40.82 ±4.73 bE	32.47 ±7.40 bG

结果有一定差异，可能与 CarE 表达和活性存在物种和组织特异性有关(Imai, 2006)。734 在处理后 1 -3 d 时，对照组的 CarE 活性呈下降趋势，而添氟组的活性数值上下波动，但高于对照组。因为蚕体自身的免疫系统可以在短时间内抵抗毒物的危害，各种与解毒相关的酶在此期间发挥其相应的作用(米智等, 2012)，第 1 天的氟化物刺激使得第 2 天的 CarE 活性急速上升，对氟化物产生反应。在处理后 4 -7 d 时，各添氟处理组的 CarE 活性变化规律同对照组一致，但数值变化幅度大于对照组，可能是蚕体内累积了高剂量的 NaF，扰乱酶系统所致(刘雨清, 1996)。2 个高浓度添氟组对 T6 CarE 活性的影响(约是对照的 0.72 倍)显著大于 2 个低浓度添氟组(约和对照组相当)。

酯酶是昆虫体内一种重要的解毒酶系,它可以通过水解酯类毒性化合物的酯键,或与亲脂类有毒化合物结合,降低其有效浓度来降低有毒化合物的毒性。因此,酯酶在昆虫对这几类杀虫剂的抗性中起着重要的作用(Zhang *et al*., 2007; Holmes *et al*., 2008)。T6 和 734 添食 NaF 后全酯酶的平均活性都表现出稍下降的趋势，734 添氟组约是对照组的 0.97 ~1.00 倍，T6 添氟组约是对照组的 0.94 ~ 0.98倍。若从全酯酶的变化趋势来分析，不管是敏感品种 734 还是耐氟品种 T6 的酶活性变化趋势基本一致，而且酶活性也很相近，仅 T6 品种在处理后第 4 天时，2 个高浓度添氟组下降，而其他处理组上升，推测可能是耐氟品种家蚕在高浓度 NaF 影响下表现出来的应激反应。但整体上来说，氟化物对家蚕中肠的全酯酶活性影响不大。相同浓度下，2 品种间在 7 d 内的差异均显著($P<0.05$)(表 2)。

本实验结果表明，NaF 对耐氟品种 T6 的 CarE 活性起抑制作用，而对敏感品种 734 的 CarE 活性起促进作用，推测家蚕中肠的 CarE 活性与蚕体的耐氟性能有一定的相关性，而 2 品种家蚕中肠的全酯酶活性与氟化物之间的关系不明显。这 2 种酶在家蚕对氟化物代谢过程中的作用机理尚不清楚，有待进一步研究。

参考文献 (References)

Gopalan N, Bhattacharya BK, Prakash S, Rao KM, 1997. Characterization of carboxylesterases from malathion-resistant *Culex quinquefasciatus* Say (Diptera: Culicidae) mosquitoes. *Pesticide Biochemistry and Physiology*, 57(2): 99 -108.

Hemingway J, 2000. The molecular basis of two contrasting metabolic mechanisms of insecticide resistance. *Insect Biochemistry and Molecular Biology*, 30(11): 1009 -1015.

Holmes RS, Cox LA, VandeBerg JL, 2008. Mammalian carboxylesterase 5: comparative biochemistry and genomics. *Comparative Biochemistry and Physiology D - Genomics & Proteomics*, 3(3): 195 -204.

Huang J, Qiao CL, 2002. Mechanism and application of insect detoxifcation enzymes in bioremediation of pesticide contamination. *Agro-environmental Protection*, 21(3): 285 - 287. [黄菁, 乔传令, 2002. 昆虫解毒酶解毒机理及其在农药污染治理中的应

用. 农业环境保护, 21(3): 285 – 287]

Huang JT, Zhu WM, Xia JG, Xiang ZH, 1996. Complete Works of Sericultural Technology in China. Sichuan Publishing House of Science & Technology, Chengdu. [黄君霆, 朱万民, 夏建国, 向仲怀, 1996. 中国蚕丝大全. 成都: 四川科学技术出版社]

Huang LL, Wei BY, Meng YY, 2005. Experiment about soaking time of sodium fluoride solution on concentration changes of mulberry leaf containing fluoride. *Guangxi Sericulture*, 42(4): 5 – 7. [黄玲莉, 韦博尤, 蒙艺英, 2005. 氟化钠溶液浸泡时间对桑叶含氟浓度变化的试验. 广西蚕业, 42(4): 5 – 7]

Imai T, 2006. Human carboxylesterase isozymes: catalytic properties and rational drug design. *Drug Metabolism and Pharmacokinetics*, 21(3): 173 – 185.

Karatolos N, Williamson MS, Denholm I, Gorman K, ffrench-Constant RH, Bass C, 2012. Over-expression of a cytochrome P450 is associated with resistance to pyriproxyfen in the greenhouse whitefly *Trialeurodes vaporariorum*. *PLoS ONE*, 7(2): e31077.

Karunaratne SH, Jayawardena KG, Hemingway J, Ketterman AJ, 1993. The function of esterases in insecticide resistance in *Culex quinquefascitatus* mosquitoes from Sri Lanka. *Biochemical Society Transactions*, 21(4): 482S.

Khajuria C, Buschman LL, Chen MS, Siegfried BD, Zhu KY, 2011. Identification of a novel aminopeptidase P-like gene (*OnAPP*) possibly involved in Bt toxicity and resistance in a major corn pest (*Ostrinia nubilalis*). *PLoS ONE*, 6(8): e23983.

Li XC, Schuler MA, Berenbaum MR, 2007. Molecular mechanisms of metabolic resistance to synthetic and natural xenobiotics. *Annual Review of Entomology*, 52: 231 – 253.

Liu YQ, 1996. Mutagenicity of fluoride. *Foreign Medical Sciences (Section of Medgeography)*, 17(2): 58 – 60. [刘雨清, 1996. 氟化物的诱变性. 国外医学(医学地理分册), 17(2): 58 – 60.]

Mi Z, Ruan CL, Li GN, Du WH, Long YH, Zhu Y, 2012. Activity variations of NADPH cytochrome P450 reductase and NADPH cytochrome C reductase in midgut of fluoride poisoned *Bombyx mori*. *Science of Sericulture*, 38(1): 0102 – 0108. [米智, 阮成龙, 李冠楠, 杜文华, 隆耀航, 朱勇, 2012. 家蚕氟中毒后中肠 NADPH-细胞色素 P450 还原酶和 NADPH-细胞色素 C 还原酶活性的变化. 蚕业科学, 38(1): 0102 – 0108]

Owusu EO, Horiike M, Hirano C, 1996a. Inhibition by insecticides of partially purified carboxylesterases from *Aphis gossypii* (Homoptera: Aphididae). *Journal of Economic Entomology*, 89(2): 307 – 310.

Owusu EO, Horiike M, Hirano C, 1996b. Polyacrylamide gel electrophoretic assessments of esterases in cotton aphid (Homoptera: Aphididae) resistance to dichlorvos. *Journal of Economic Entomology*, 89(2): 302 – 306.

Van Asperen K, 1962. A study of housefly esterases by means of a sensitive colorimetric method. *Journal of Insect Physiology*, 8(4): 401 – 416.

Vaughan A, Hawkes N, Hemingway J, 1997. Co-amplification explains linkage disequilibrium of two mosquito esterase genes in insecticide-resistant *Culex quinquefasciatus*. *Biochemical Journal*, 325(Pt2): 359 – 365.

Vaughan A, Hemingway J, 1995. Cloning and sequence of the full-length cDNA for a major insecticide resistance gene worldwide in the mosquito *Culex quinquefasciatus*. *Journal of Biological Chemistry*, 270(28): 17044 – 17049.

Yu XL, Wang M, Kang MJ, Liu L, Guo XQ, Xu BH, 2011. Molecular cloning and characterization of two nicotinic acetylcholine receptor β subunit genes from *Apis cerana cerana*. *Archives of Insect Biochemistry and Physiology*, 77(4): 163 – 178.

Zhai QH, 1995. Some aspects of progress in insect molecular biology: molecular mechanisms of insecticide resistance. *Acta Entomologica Sinica*, 38(4): 493 – 501. [翟启慧, 1995. 昆虫分子生物学的一些进展: 杀虫剂抗性的分子基础. 昆虫学报, 38(4): 493 – 501]

Zhang L, Gao XW, Liang P, 2007. Beta-cypermethrin resistance associated with high carboxylesterase activities in a strain of house fly, *Musca domestica* (Diptera: Muscidae). *Pesticide Biochemistry and Physiology*, 89(1): 65 – 72.

Zhang L, Shi J, Shi XY, Liang P, Gao JP, Gao XW, 2010. Quantitative and qualitative changes of the carboxylesterase associated with beta-cypermethrin resistance in the housefly, *Musca domestica* (Diptera: Muscidae). *Comparative Biochemistry and Physiology B – Biochemistry & Molecular Biology*, 56(1): 6 – 11.

Zhang P, 2009. Research progress on fluorine of the hereditary toxicity. *Livestock and Poultry Industry*, 238(2): 42 – 44. [张平, 2009. 氟化物遗传毒性的研究进展. 畜禽业, 238(2): 42 – 44]

(责任编辑: 赵利辉)